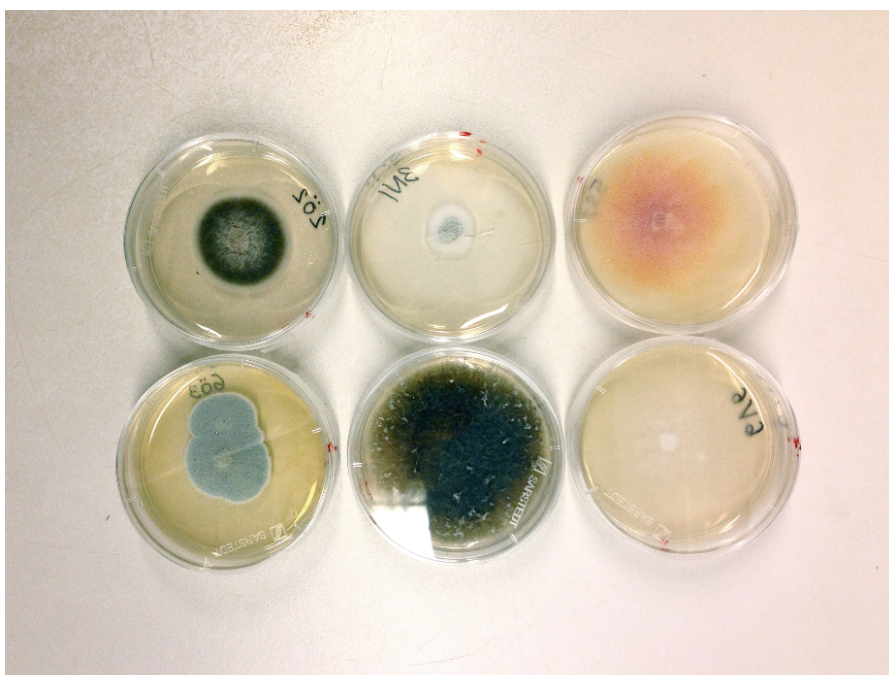


# Värdspecifitet och diversitet av svampendofyter hos *Fraxinus excelsior* och *Acer pseudoplatanus*

Host Specificity and Diversity of Fungal Endophytes in *Fraxinus excelsior*  
and *Acer pseudoplatanus*

Alva Anderberg



# Värdspecifitet och diversitet av svampendofyter hos *Fraxinus excelsior* och *Acer pseudoplatanus*

Host Specificity and Diversity of Fungal Endophytes in *Fraxinus excelsior* and *Acer pseudoplatanus*

*Alva Anderberg*

**Handledare:** Johanna Witzell, SLU, Institutionen för sydsvensk skogsvetenskap

**Examinator:** Jörg Brunet, SLU, Institutionen för sydsvensk skogsvetenskap

**Omfattning:** 15 hp

**Nivå och fördjupning:** G2E

**Kurstitel:** Kandidatarbete i biologi

**Kurskod:** EX0493

**Program:** Trädgårdsingenjör : odling – kandidatprogram

**Examen:** Kandidatexamen i biologi

**Ämne:** Biologi (EX0493)

**Utgivningsort:** Alnarp

**Utgivningsmånad och -år:** juni 2016

**Omslagsbild:** Alva Anderberg

**Elektronisk publicering:** <http://stud.epsilon.slu.se/>

**Nyckelord:** endofyter, *Fraxinus excelsior*, ask, *Acer pseudoplatanus*, sykomorlön, svampsamhällen, värdspecifitet, biologisk mångfald

**Keywords:** endophytes, *Fraxinus excelsior*, ash, *Acer pseudoplatanus*, sycomore maple, fungal communities, host specificity, biodiversity

SLU, Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för landskapsarkitektur, trädgårds- och växtproduktionsvetenskap

Institutionen för biosystem och teknologi

# Innehållsförteckning

Sammanfattning .....	4
Abstract .....	5
1. Inledning .....	6
1.2 Syfte .....	6
1.3 Frågeställning.....	7
1.4 Avgränsning.....	7
2. Bakgrund.....	8
2.1 Ask, familjen <i>Oleaceae</i> .....	8
2.1.1 Askskottssjuka .....	8
2.2 Sykomorlön, familjen <i>Sapindaceae</i> .....	9
2.2.1 Likheter och skillnader i förhållande till ask .....	9
2.3 Skogsbruket.....	10
2.4 Naturvården.....	11
2.3 Endofyter.....	12
2.3.2 Ekologisk roll .....	13
3. Metod och material .....	15
3.1 Plats.....	16
3.2 Insamling.....	16
3.3 Isolering .....	17
3.4 Morfotyper .....	18
3.5 Litteraturstudier.....	19
4. Resultat .....	19
5. Diskussion.....	21
5.1 Tidigare studier av värdspecificitet.....	21
5.2 Ekologiska konsekvenser.....	24
5.3 Metodbegränsningar .....	24
5.4 Framtida forskning.....	25
6. Slutsats .....	25
7. Tillkännagivanden.....	26
8. Referenser .....	26

## Sammanfattning

Efter askskotts- och almsjukans snabba framfart står det klart att svampsjukdomar inom loppet av ett decennium kan få mångfalden i svenska skogar att se fundamentalt annorlunda ut. Skogsbruket och naturvården saknar två av tidigare alternativ för föryngring av ädellövskog. Sykomorlön (*Acer pseudoplatanus*) definieras som invasiv art på grund av dess konkurrenskraft och förmåga att självså sig i etablerade bestånd, men anses intressant av skogsbruket på grund av sin goda tillväxt. Det finns såväl ekologiska som ekonomiska skäl till att närmare förstå den inverkan på biologisk mångfald som det här eventuella skiftet av trädslag inom våra lövskogsekosystem har.

Vedlevande svampar utgör en stor ekologiskt och taxonomiskt heterogen grupp som är del av den mångfald som finns knuten till träd. Somliga orsakar sjukdom, medan andra är direkt förbundna med träds välmående och konkurrenskraft. De är på så vis involverade i många ekologiska processer och del av de egenskaper som formar andra organismers relationer till en trädart. Svampar som lever symbiotiskt inuti växtvävnad utan att orsaka symptom kallas endofyter.

Den här studien har jämfört diversiteten av endofytiska svampar hos ask (*Fraxinus excelsior*) och sykomorlön (*A. pseudoplatanus*) inom samma bestånd. Bark från individer av respektive trädart samlades in, ytsteriliserades och kultiverades för endofyttillväxt. Sammanlagt 146 isolat sorterades in i 30 morfologiska grupper (morfotyper). Resultaten antyder att koloniseringsgrad, antal morfotyper och fördelning mellan dem är likartad hos de båda trädarterna. Vilka endofyter som finns hos respektive värd skiljer sig dock tydligt åt. Ask och sykomorlön utgör således lika goda habitat åt endofytiska svampar, men åt olika endofytsamhällen. Resultaten går i linje med liknande studier, men mer data och DNA-sekvensering behövs för att bekräfta dem.

## Abstract

In just a decade the tree pathogens causing Dutch elm disease and ash dieback have had great impact on the community of Swedish forests. Hence both nature conservationists and foresters are lacking two species for rejuvenation of broad-leaved forest stands. The sycamore maple (*Acer pseudoplatanus*) is considered an invasive species because of its competitiveness and ability to spread in mature tree stands. Yet, foresters are interested in the potential of its strong growth. There are both ecological and economic reasons for a better understanding of the impact on biodiversity of this eventual shift of tree species in the broad-leaved ecosystems.

Wood-inhabiting fungi represent a large ecologically and taxonomically diverse group which is part of the diversity linked to trees. Some cause disease, while others are directly associated with the fitness and well-being of trees. They are thus involved in many ecological processes, and part of the characteristics that shape other organisms' relationships to a tree species. Fungi that live symbiotically within plant tissue without causing symptoms are known as endophytes.

This study has compared the diversity of endophytic fungi of ash (*Fraxinus excelsior*) and sycamore maple (*A.pseudoplatanus*) in the same stand. Bark from individuals of each tree species were collected, surface sterilized and cultivated for endophytic growth. A total of 146 isolates were sorted into 30 morphological groups (morphotypes). The results suggest that the colonization rate, amount and distribution of morphotypes is similar within the two tree species. Which endophytes are associated with each host is however distinct. Ash and sycamore maple are therefore similarly good habitats for fungal endophytes, but support different endophytic communities. The results are in line with similar studies, but more data and DNA sequencing are needed to confirm them.

## 1. Inledning

Efter almsjukan och askskottsjukans snabba framfart står det klart att svampsjukdomar inom loppet av några år kan få mångfalden i svenska skogar att se fundamentalt annorlunda ut. Skogsbruket saknar två av tidigare alternativ för förnygring av ädellövskog. Även gatukontor och naturvård har behov av träd som praktiskt och ekologiskt kan ersätta ask och alm och bidra till en större artdiversitet inom trädbestånden. Sykomorlön är en släkting till skogslönnen (*Acer platanoides*) och kom till Sverige någon gång under tidigt 1800-tal (Hylander 1971). Den har spridit sig naturligt så till den grad att den betraktas som en invasiv art av Naturvårdsverket (Weidema & Buchwald 2010). Om skogsbruket visar uttalat intresse av att använda sig av sykomorlönnen finns det såväl ekologiska som ekonomiska incitament till att närmare förstå dess inverkan på biologisk mångfald.

Vedlevande svampar utgör en stor ekologiskt och taxonomiskt heterogen grupp som är del av den mångfald som finns knuten till träd. Somliga orsakar sjukdom, medan andra är direkt förbundna med träds välmående och konkurrenskraft (Schulz & Boyle 2005). De är på så vis involverade i många ekologiska processer och del av de egenskaper som formar andra organismers relationer till en trädart. Svampar som lever symbiotiskt inuti växtvävnad utan att orsaka symptom kallas endofyter (Wilson 2000). Ekologin kring dessa svampar är ett forskningsfält som växer snabbt i takt med att man upptäcker allt fler exempel på hur mycket endofytiskt levande mikroorganismer har inverkan på sina värdorganismer. Det finns endofyter som skyddar sina värdväxter från angrepp, och det finns de som bidrar till nedbrytningen av växterna när de dör (Saikkonen et al. 2011, Schulz & Boyle 2005). De representerar dessutom en stor genetisk diversitet, där det antal som beskrivits ännu är toppen av ett isberg (Wilson 2000). Att förstå mer om endofyternas förhållande till sina värdorganismer kan ge oss bättre insikt om de komplexa interaktionerna i skogliga ekosystem.

### 1.2 Syfte

Emedan ask och alm har hamnat på Artdatabankens rödlista, sprider sig sykomorlön i de sydsvenska lövbestånden. Naturvårdsverket definierar sykomorlönnen som invasiv (Weidema

& Buchwald 2010) medan skogsbruket ser dess potential för virkesproduktion (Rydberg & Almgren 2003). Ask och sykomorlön är således intressanta studieobjekt eftersom de utgör materiell intressekonflikt mellan olika aktörer och kan utgöra ett skifte av nyckelarter i våra ekosystem. Det finns många intressanta perspektiv att belysa och biodiversiteten knuten till träden är ett av dem. Den här studien kommer främst att deskriptivt svara på frågan om svampendofytisk diversitet kopplad till träden. Det finns idag begränsat med forskning på endofytsamhällen hos sykomorlön, men en del aktuella studier av ask. Datainsamling om endofyter är även av generellt intresse för bioteknisk forskning. Dels på grund av deras produktion av metaboliter av antibakteriell och fungicid karaktär, som har potential inom medicin och integrerad produktion, och dels på grund av deras förmåga till responslöst intrång i växtvävnad, som ger dem potential som agenter för nytt genetiskt material inuti växter (Suryanarayanan 2013).

### 1.3 Frågeställning

Genom att undersöka sammansättningen av endofytiskt levande svampar kan studien ge en indikation om sykomorlönnen är kompatibel med en del av den biologiska mångfald som finns knuten till ädellöv i Sverige.

Har individer av sykomorlön (*A. pseudoplatanus*) och ask (*F. excelsior*) inom samma miljö likartad mångfald av endofytiska svampar kopplade till sig?

### 1.4 Avgränsning

Insamling av växtmaterial består enbart av ytterbarken från träden, eftersom tidigare forskning vittnat om att den är mer artrik än veden inuti trädet (Petrini & Fisher 1988, Kowalski & Kehr 1992) och blad inte funnits tillgängliga för säsongen. De endofyter som påvisas kommer således endast utgöra en vävnadsspecifik och temporal ögonblicksbild av den totala svampfloran hos de olika trädarterna. Svampfloran i sin tur återspeglar endast en bråkdel av den biologiska mångfald som finns kopplad till de specifika trädarterna. Även en begränsad studie kan dock vara av värde, då ännu en mycket liten andel av alla världens endofyter kartlagts, och mycket ännu finns att lära om endofytsamhällenas sammansättning i

växter och vad deras ekologiska roller har för effekter på populationsdynamik inom växtsamhällen.

## 2. Bakgrund

### 2.1 Ask, familjen *Oleaceae*

Artnamnet *excelsior* kommer av latinets *celsus* för upprätt, reslig. Asken kan bli ett mycket stort träd, uppåt 43 meter högt (Thomas 2016). Asken är vindpollinerad och heteroik, vilket innebär att varje enskild planta kan vara antingen hermafrodit, han- eller honindivid. Den har ett ljusgenomsläppligt, parbladigt lövverk och en grov, näringsrik bark med relativt högt pH, vilket gör den till ett populärt substrat för många lavar. Enligt ArtDatabanken (Gärdenfors 2010) är 180 rödlistade arter kopplade till ask, varav några obligat beroende av asken som habitat. Av samtliga trädslag i Sverige utgör ask dock endast 0,1 % av den totala stamvolymen (Skogsstyrelsen 2013). Ask förekommer på många olika jordmånar, men utvecklas allra bäst på fuktig, kalkhaltig och näringsrik mark. Asken har både pionjär- och sekundärartsegenskaper: dess skott är ljuskrävande, men klarar att ta sig upp i medelstora luckbildningar i skog. I Sverige är asken allmänt förekommande upp till den klimatologiska norrlandsgränsen, och dess utbredning sträcker sig över större delar av Europa, till och med Kaspiska havet (Skogsstyrelsen 2013).

#### 2.1.1 Askskottssjuka

Från att ha varit ett självklart inslag i den sydsvenska landskapsbilden finns asken sedan 2010 med i Artdatabankens rödlista över hotade arter. Anledningen är en sporsäckssvamp känd som askskottsjukan. Från att ha observerats lokalt 2002 spred sig patogenen snabbt och märktes bara några år senare genom tydliga skador på askbeståndet i hela landet (Barklund 2006). Svampens asexuella form beskrevs som källa till sjukdomen av Kowalski (2006), och kom 2010 att bestämmas till att höra samman med den sexuella form av svampen, sedan 2014 känd under namnet *Hymenoscyphus fraxineus*. Askskottsjukan sprids effektivt med hjälp av luftburna sporer som landar på askens bladverk. Svampen sprider sig vidare ner genom bladskafet och orsakar nekros på skotten till följd av att innerbarken dör (Johansson et al.



2009). Enligt skadeinventeringar utförda av SLU 2009 och 2010 var 30 % av askarna svårt skadade eller döda och 50 % synligt angripna av sjukdomen.

## 2.2 Sykomorlön, familjen *Sapindaceae*

Sykomorlönnen (*A. pseudoplatanus*), även känd som tysklön, är det största trädet bland släktet *Acer* i Europa och kan bli 35 m högt med en stamdiameter om 1 m (Jones 1945). Den har en riklig blomning, är insektspollinerad och får så småningom vindspridda frön som liknande skogslönnens (*A. platanoides*) 'näsor'. Sykomorlönnen trivs i fuktiga, näringsrika jordar med relativt högt pH, men är även funnen på näringsfattigare jordar. Sykomoren är en sekundärart som med fördel växer upp i skuggan av andra träd, vilket gör att den har förmåga att sprida sig i fullvuxna trädbestånd.

Sykomorlönnens naturliga utbredning härrör till bergsområden i Central- Öst och Sydeuropa. Första fynduppgift som förvildad i Sverige är från Drottningholm, Uppland och publicerades i Wikströms *Stockholms flora* 1840 (Hylander 1971). Enligt Skogsstyrelsen (2011) finns i Sverige fem större bestånd med huvudsaklig andel sykomorlön, varav fyra i Skåne och ett i Kalmar län. Bestånden är generellt inte mycket större än 1 ha (det i Kalmar 2,9) och de flesta av träden är etablerade ca 1950- och 60-tal. Bestånden består till 42-100% av sykomorlön, med bok som den vanligaste inblandningen, följt av ek och ask (ca 25%). Samtliga bestånd är funna på näringsrika jordar. Jörg Brunet, professor i ekologi vid institutionen för sydsvensk skogsvetenskap på Sveriges Lantbruksuniversitet, uppskattar dock att finns många fler planterade bestånd av sykomorlön i Sverige, bara i Skåne minst flera tiotal.<sup>1</sup> Sjöstedt (2012) identifierade genom omfattande intervjuer med skogsägare och inventeringar 40 bestånd i södra Sverige.

### 2.2.1 Likheter och skillnader i förhållande till ask

Historiskt sett har ask och sykomorlön likartad geografisk utbredning med centrum i Centraleuropa. Asken har dock en naturlig spridning längre norrut, medan sykomorlönnen generellt är vanligare söderöver och dessutom förekommer på högre altituder än asken, gärna

---

<sup>1</sup> Personlig kommunikation 30-05-2016

i bergskedjor (Binggeli 1992). Asken å sin sida, tål att stå i vattensjuk mark upp till fem gånger så många dagar som sykomorlönnen, vilket ger den företräde till marker med hög grundvattennivå, jordar med dålig dränering samt platser som ibland blir översvämmade. Sykomorlönnens bladverk är tätare och skapar en mycket kompaktare skugga. Detta kan ge upphov till annorlunda markflora och mikroklimat längs stammen än hos asken. Sykomorlönnen har dessutom fjällliknande bark, som ligger om lott i lager och successivt faller av, medan asken har vertikala åsar av skorpbark som blir bredare och djupare med åldern. Under för sykomorlönnen gynnsamma förhållanden kan den konkurrera ut asken (Binggeli 1992). Sykomorskotten är dock känsliga för uttorkning och konkurrens från ogräs.

## 2.3 Skogsbruket

Skogsvårdslagen förordar att bestånd som definieras som ädellövsskog endast får ersättas av ny ädellövskog (Rydberg & Almgren 2003). Lagen syftar till bevara andelen ädellövsskog i Sverige, och fastställer de arter som innefattas i definitionen till alm, ask, avenbok, bok, ek, fågelbär, lind och lönn. Samtidigt gäller enligt Skogsstyrelsens föreskrifter (SKSFS 1993:2) att endast skogsodlingsmaterial som ger skogsbestånd med goda förutsättningar att utvecklas väl och som kan utnyttja marken för tillfredsställande virkesproduktion får användas för skogsodling. Det ställer krav på markägare att välja ekonomiskt fördelaktiga trädslag.

I Skogsstyrelsens bok "Våra ädla lövträd" (Rydberg & Almgren 2003) behandlas sykomorlönnen. Trots sin status som invasiv art rekommenderas den som successionsbildande undervegetation i bokdominerade bestånd. Vidare beskrivs dess timmer som mycket lönsamt och att den är vid slutavverkningsbara dimensioner redan vid 80 år. North European and Baltic Network on Invasive Alien Species (NOBANIS) är ett nätverk som samlar information om invasiva arter inom Europa, för underlag till riskbedömningar, prioriteringar och åtgärdsplaner för arter som är klassade som invasiva. Deras rapport om sykomorlönnen (Weidema & Buchwald 2010) beskriver hur skogsägare i Danmark tidigare sett sykomorlönnen som ett problem och försökt få bort den, men senare valt att istället använda sig av den, med goda ekonomiska resultat.

## 2.4 Naturvården

Enligt Naturvårdsverket och NOBIS klassificeras sykomorlönnsom främmande och invasiv i Sverige (Weidema & Buchwald 2010). De använder sig av Konventionen för biologisk mångfalds definitioner av främmande och invasiv. En art, underart, eller lägre taxonomisk enhet som introducerats utanför sin historiska eller nutida naturliga utbredning är främmande. Det inkluderar alla delar som kan överleva och reproducera sig. En invasiv art är en främmande art vars introduktion och spridning hotar biologisk mångfald, eller skadar människor eller socioekonomiska värden. NOBIS konstaterar att sykomorlönnsom sprider sig mycket lätt i södra Sverige och att dess ökning i antal har haft en negativ inverkan på artrikedomen av växter och svamp. Den kan således utgöra ett problem i områden där man har för avsikt att bevara en mer renodlad inhemsk flora av träd, som till exempel nära naturskyddsområden. Länsstyrelsen (2009) förordar i "Rekommendationer för trädplantering i Skåne" att ersätta ask med lönn eller ek, men avråder från användning av just sykomorlönnsom, med hänvisning till dess tendens att konkurrera ut inhemsk vegetation. NOBIS sammanfattar dock att kända utbredningshastigheter för trädslag i postglaciära norra Europa är ca 200 km/100 år, vilket gör att uppskattningsvis 800 km kan adderas till sykomorlönnsoms naturliga utbredning år 2000, jämfört med dess kända utbredning på 1600-talet. Det gör i sin tur att dess förväntade utbredning sträcker sig en bit upp i Sverige (Weidema & Buchwald 2010).

Kommittéen som rådgör Storbritanniens regering i frågor om naturvård, *Joint Nature Conservation Committee (JNCC)*, sammanställde 2014 en rapport över förlorad biodiversitet kopplad till ask till följd av askskottsjukan. De har identifierat vilka arter som är hotade i och med askens försvinnande och genomfört multivariata analyser av vilka trädarter som successivt kan komplettera och ersätta asken, utifrån olika behov. Studien jämförde ask med 22 olika trädarter, bland annat genom jämförelse av egenskaper såsom blomning, bladstorlek, typ av frukt, bark-pH och kronarkitektur, men även genom att jämföra hur stort antal av de askrelaterade arterna (1058 st, varav 548 lavar) som kan nyttja de olika träden (Mitchell et al 2014).

Av de arter som jämfördes har skogseken (*Quercus robur*) störst möjlighet att utgöra habitat åt flest askassocierade arter (69 %), tätt följd av bok och på tredje plats sykomorlönnsom. Det

resultatet är sammantaget alla associerade arter, och för en specifik artgrupp ser listan av trädslag annorlunda ut. JNCC konstaterar vidare att ingen enskilda art kan ersätta asken, men understryker att allra bäst effekt uppnås genom en kombination av olika trädslag (Mitchell et al 2014). Sammanlagt har skogslönn, sykomorlönn, hassel, björk, havtorn, poppel, körsbär, ek, sälg och skogslind potential att underhålla 84 % av arterna kopplade till ask. Vilka trädslag man bör använda sig av på en specifik plats är beroende av vad man vill uppnå; vilken eller vilka askrelaterade arter som finns och på vilket sätt de är associerade, samt vilka förutsättningar platsen har i förhållande till trädens krav på ståndort.

## 2.3 Endofyter

Endofyter utgör diversitet på mikronivå. Ett enskilda barr kan hysa ett dussintal arter. Det rör sig om en mycket artrik grupp, och förmodligen är det endast en liten del av denna mångfald som är beskriven (Wilson 2000). Det anses trots det vedertaget att endofyter förekommer hos alla växter, eftersom studier av växter ur samtliga växtfamiljer världen över påvisat deras existens (Petrini 1986). Fortfarande befinner sig forskningen kring endofyter på en kartläggande nivå.

### 2.3.1 *Biologi*

Endofyter är en taxonomiskt heterogen grupp som utgörs främst av ascomyceter, även kända som sporsäckssvampar (Petrini & Fisher, 1986), men även basidiesvampar, deuteromyceter och oomyceter (Saikkonen et al 1998). De är mycket olikartade såväl fylogenetiskt som avseende ekologiska roller och livscykelstrategier (Schulz & Boyle 2005). Ordet endofyt beskriver egentligen bara en plats, vilket är inuti (endo) en växt (fyt), och beskriver således alla organismer som har den levnadsmiljön. Begreppet har dock kommit att inkludera ett förhållande mellan växten och dess symbiont, som innebär att växten inte reagerar på dess intrång och kolonisering av växtvävnad (Wilson 1995). Således skiljer sig endofytens existens i växten från parasiten, på vilken växten uppvisar symptom på infektion. Det är dock inte uteslutet att endofyter kan verka som parasiter, likväl som mutualister, under sin livscykel i växten. Begreppet endofyt gör mest anspråk på den spårlösa infektionsstrategin i frisk växtvävnad, alltså växtens frånvaro av respons (Wilson 1995).

Endofyter förekommer intracellulärt, begränsade till en enskild cell, och intercellulärt (mellan celler) med begränsad spridning, intercellulärt-systemiskt, samt både intra- och intercellulärt (Stone et al 2000). Med hjälp av exoenzymer och appressoria och haustoria, specialiserade hyfer, tar de sig in i växtvävnaden, genom klyvöppningar eller cellväggar (Schulz & Boyle 2005). Många endofyter förekommer mycket lokalt, ibland begränsade enbart till ett fåtal växtceller (Carroll, 1988; Petrini et al., 1992). Dessa är ofta överförda horisontellt mellan värdväxter, det vill säga via miljön med hjälp av sporer. Sporernas spridning kan ske med hjälp av vind, regn och vektorer som till exempel insekter (Wilson 2000). En del endofyter sprider sig vertikalt genom att hyfer växer in i värdväxtens fröer, och nedärvs från generation till generation (Petrini et al., 1992). Detta är framförallt vanligt förekommande bland gräs, även om infekterade frön av träd har påträffats. De vertikala endofyterna är inte lokalt begränsade utan sprider sig ofta systemiskt inuti värdväxten. De flesta endofyter överförs dock företrädesvis horisontellt via miljön.

### *2.3.2 Ekologisk roll*

Man vet relativt lite om dessa symptomlöst inneboende svampars effekt på de ekologiska sammanhangen i sin helhet, eftersom de är svåra att studera särskilda från de system av interaktioner de ingår i. Man kan dock konstatera att de även om de lever inom samma nisch inte nödvändigtvis har samma ekologiska roll. Likt bakteriefloran inuti däggdjur har endofyter inom växter olika funktioner och är med all säkerhet inblandade i många olika fysiologiska och biokemiska processer inuti växter (Wilson 2000). Det faktum att såväl alger, mossor som stora träd världen över utgör habitat åt dessa mångfasetterade svampar vittnar om att det rör sig om en evolutionärt mycket gammal och lyckad symbios (Suryanarayanan 2013).

Den uppenbara fördelen med denna symbios är ur endofyternas perspektiv deras tillgång till näring inuti växtvävnaden, samt att det är en livsmiljö som erbjuder skydd från såväl abiotiska stressfaktorer som konkurrens från många organismer (Bacon & Hill, 1996). Fördelarna för växten är inte lika allmänna, men väl mångfasetterade. De kan på olika sätt bidra till att stärka eller försvara växten, till exempel genom att förbättra kväveomsättning (Harman et al 2004), minska mängden nekros vid angrepp (Romeralom 2015) eller skydda

växter från patogena svampar eller växtätande insekter och däggdjur med hjälp utav produktion av mykotoxiner. Detta förhållande upptäcktes redan under 70-talet när man upptäckte att endofyter hos gräs (*Festuca arundinacea*) producerade kväverika alkaloider som orsakade illamående och yrsel hos boskap, och även att boskapen, givna ett val, föredrog gräs som var fritt från endofyter (Raven et al 1992). Detta mutualistiska förhållande, där endofyten tydligt försvarar värdorganismen mot angrepp är dock främst förekommande hos gräs, varvid obligat mutualism återfinns hos flertalet arter (Clay 1990, Saikkonen 1998). Många endofyter hos träd utsöndrar antibakteriella och fungicida substanser in vitro (Fischer et al 1984) men huruvida dessa substanser enbart gagnar endofytens egen överlevnad eller om de överhuvudtaget förekommer i sådana mängder att de kan ha något ekologiskt värde för värdväxten är inte alltid så enkelt att uttala sig om (Saikkonen 1998). Ett generellt problem inom forskningen om endofytors roller för växter är att det är svårt att uppbåda kontrollplantor som är helt fria från endofyter.

Många endofyter kan byta strategi i sin relation till växten, från mutualism eller kommensalism, till parasitism (Carroll 1988). De kan existera metaboliskt inaktiva i växten, för att vid ett angrepp av något slag aktiveras och antingen anta rollen som patogen, eller som defensivt försvar och producera toxiner (Raven et al 1992). Förhållandet beskrevs av Saikkonen et al. (1998) som dynamiskt, och kan triggas av att abiotiska eller biotiska stressfaktorer, så som försämrat näringsupptag eller angrepp från andra organismer, som får växten att försvagas. Detta kan föranleda att endofyten utnyttjar sin värd parasitiskt, eller att stressignalerna hos växten inhiberar mykotoxinproduktion och försvarar växten från angrepp (Bultman & Murphy 2000). Endofytens respons på skadan kan då betraktas som en del av växtens inducerade resistens. Endofytiska svampar kan även vara saprofyter i den mån att de bryter ner död vävnad, utan att för den sakens skull medverka till försvagandet av sin värdväxt (Schulz & Boyle 2005). Till exempel har man upptäckt att många svampar som bryter ned dött material förekommer i växten redan när den är vid liv.

Endofyter har iakttagit avsöndra tillväxtstimulerade substanser såväl som hämmande toxiner, likväl som värdväxten kan svara genom produktion av metaboliter eller mekaniskt försvar (Schulz & Boyle 2005). Detta tummar på definitionen av endofytens existens i växten som responslös. Schulz & Boyle (2005) föreslår därför att beskriva relationen dem emellan

som “balanserad antagonism”, och att parasitism uppstår när relationen är “obalanserad”. Den balanserade antagonismen består både i svampens förhållande till sin värd men också andra endofyter. Vilket förhållande de antar kan delvis förklaras genom deras life history-strategi: om de är värdspecifika och/eller vertikalt vidarespridda är de starkt sammanlänkade med växtens “fitness”, medan de mer generella och horisontellt överförda endofyterna har mer att vinna på ett för växten ofördelaktigt ombyte av relation (Schulz & Boyle 2005).

Kowalski & Kehrs (1992) studie av endofytdiversiteten i olika lager av bark och ved konstaterar en mycket större artdiversitet hos det yttersta, döda lagret av barken än den inre, levande veden och föreslår en uppdelning i periderma och subperiderma endofyter. Vidare menar de att detta inte beror på vilken sorts vävnad det rör sig om, men om i vilket fysiologiskt skick vävnaden är. Svamparna trivs alltså inte i xylem respektive periderm på grund av dess struktur, utan för att de för en saprofytisk eller biotrofisk tillvaro. Utifrån denna uppdelning föreslår de vidare en uppdelning där endast svampar i levande vävnad kallas “endofyter” medan saprofyterna skulle kunna kallas “phellofyter”. En invändning mot denna klassificering är att vissa endofyter verkar vara fakultativa saprofyter (Wilson 1995).

### 3. Metod och material

Genomförandet av studien består av olika moment.

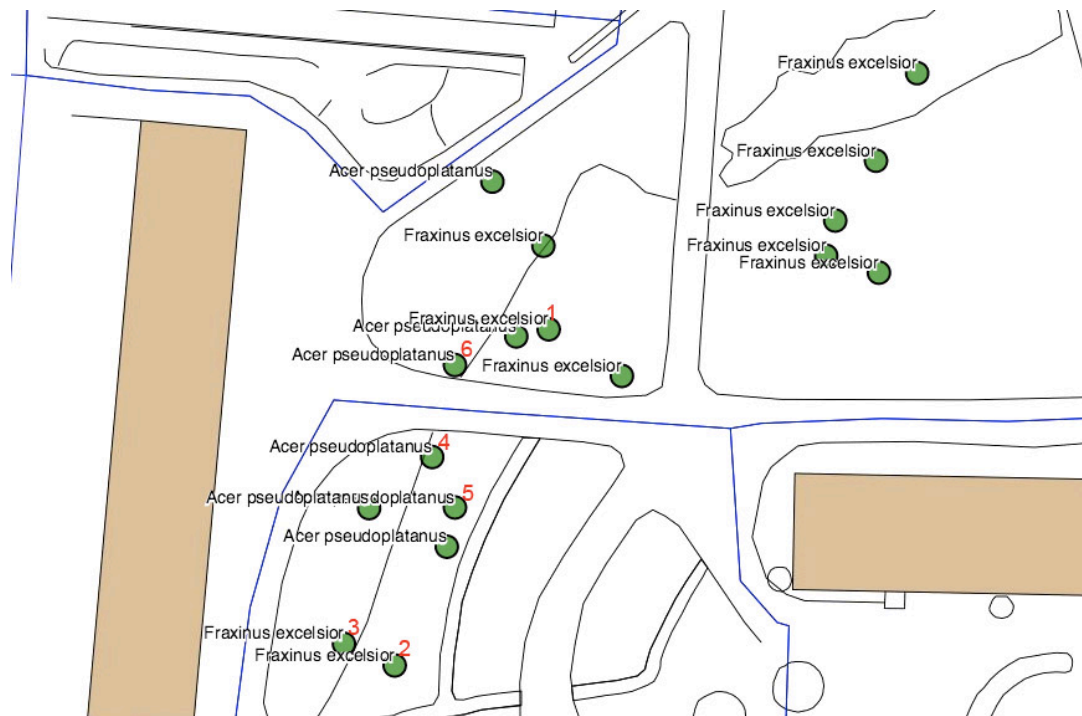
1. Insamling av bark
2. Kultivering och isolering av endofyter
3. Morfotypkategorisering
4. Analys av resultat
5. Litteraturstudier

Först samlades bark från träden in. Den ytsteriliserades för att vara fri från andra organismer än de som lever inuti barken. Små barkbitar skars ut och fick sedan tillväxa på näringsfattigt medium så att de inte skulle växa för snabbt. När hyferna vuxit ut en bit från barkbitarna, isolerades de genom att en liten del av tillväxtzonen skars ut med skalpell och flyttades över till en egen skål med mer näringsrikt medium. Därefter fick isolaten tillväxa, varpå de studerades och delades in i grupper efter morfologisk karaktär.

### 3.1 Plats

Insamlingen av barkkollekt skedde från träd i Alnarp i sydvästra Skåne (N 55.657175°, E 13.076748°).

Figur 1. Kartan visar området strax söder om annuellsortimentet i Alnarp. Kartmaterial från appen <https://treemapp.se/>



### 3.2 Insamling

Tre trädindivider av respektive art i likartad ålder valdes ut inom samma bestånd, med ett avstånd om max 30 m till nästa individ (Fig. 1). Från varje träd insamlades fyra 1 cm<sup>2</sup> barkbitar, ett från varje väderstreck, i brösthöjd, ca 130 cm ovanför marken. Bark består av floem, korkkambie av levande parenkymceller och periderm av korkceller som är döda vid mognad (Raven et al 1992). Korkceller är luftfyllda och innehåller det vaxartade, starkt hydrofobiska ämnet suberin, vilket hindrar vattenavdunstning och utgör ett skydd mot patogener. Vid insamling var avsikten att komma åt både den yttre, döda delen av barken och det levande kambielagret, utan att få med veden. Barkbitarna ytsteriliserades i sterilbänk genom att först skakas 1 min i 70% etanol, 4 min i 4% NaOCL och sedan i autoklaverat



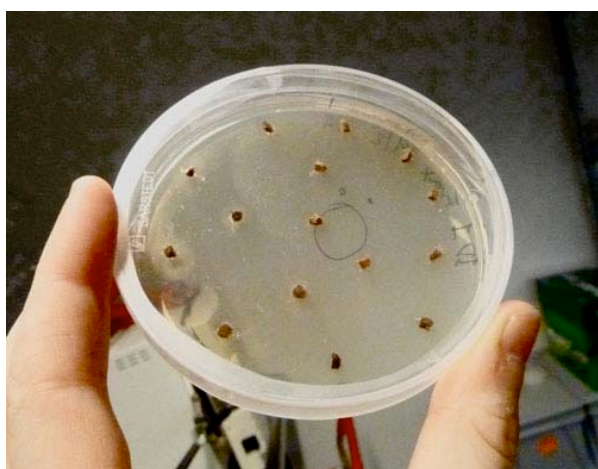
vatten 1 min x 2. Tillämpningen utgår från en standardmetod hämtad ur boken “Fungal biodiversity” av Crous et al. (2009).

### 3.3 Isolering

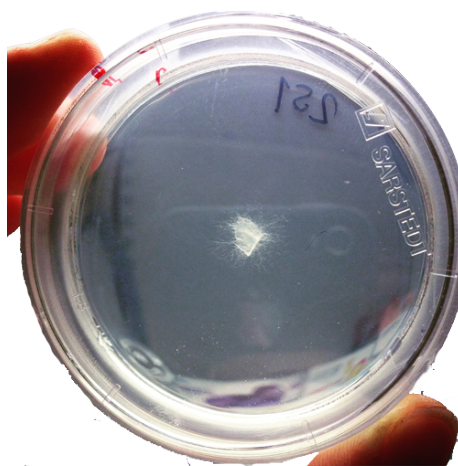
Ur varje barkkollekt skars 15 bitar om ca 2 mm<sup>2</sup> ut som sedan placerades på vattenagar i sterila Petriskålar (9 cm i dm) (Fig. 2). Arbetet genomfördes i sterilbänk och samtliga kollekt behandlades inom några timmar från det att de avlägsnats från trädet, varunder de förvarades i kyl. Efter 5-7 dagars tillväxt i mörker och rumstemperatur blev 6 barkbitar per Petriskål slumpmässigt utvalda till vidare isolat. En liten del hyfer från tillväxtzonen av respektive endofyt överfördes med steriliserade redskap till nya Petriskålar (5 cm i dm) med maltextraktagar (MEA) (Tabell 1). Sammanlagt 144 isolat förseglades med Parafilm och förvarades i mörker i rumstemperatur för tillväxt. Av de 144 isolaten tillväxte 3 st inte alls, varav samtliga från *A. pseudoplatanus*, och 3 st innehöll två olika svampar, vilket innebar att de isolerades ytterligare en gång, varav en föll bort. Slutligen blev det 146 isolat (Fig 3).

Tabell 1. Recept för tillverkning av tillväxtmedium.

Vattenagar	MEA
20 g agar	15 g maltextrakt
1000 ml avjoniserat, steriliserat vatten	18 agar
	1000 ml avjoniserat, steriliserat vatten



Figur 2. 15 st 2mm<sup>2</sup> barkbitar på tillväxt i vattenagar.

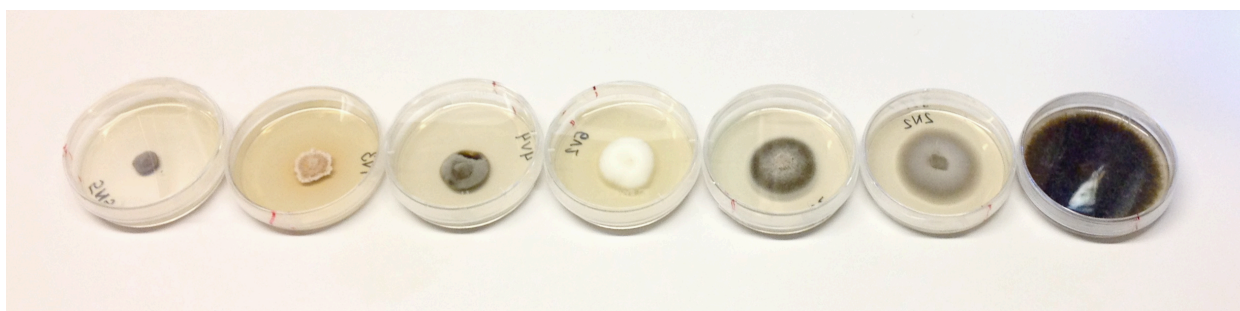


Figur 3. Isolerade hyfer i maltextraktagar.

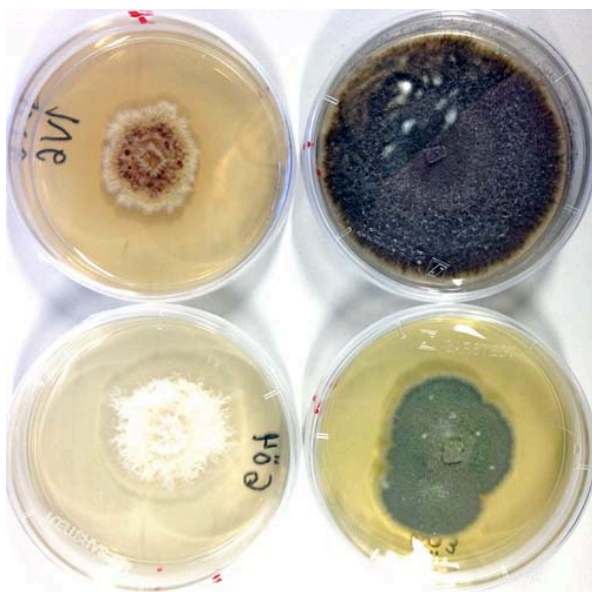
### 3.4 Morfotyper

Endofyterna grupperades efter olika morfologiska karaktärer till så kallade morfotyper. Vanligen klassificeras svampar efter reproduktiva organ och sporer. Morfotypkonceptet uppstod bland mykologer som studerade svampendofyter, och såg att en stor andel av dem inte sporulerade. Lacap et al. (2003) genomförde en studie där de validerade konceptet genom att först dela in endofyter enligt morfologiska karaktärer och sedan genomföra DNA-sekvensering. Genom att jämföra individer från respektive morfotypgrupp kunde de klargöra att morfotyperna var taxonomiskt särskilda och likartade.

Morfotyperna i den här studien har definierats efter sju olika morfologiska egenskaper: färg, färgning av medium, droppavsöndring, koloniform, kolonihöjd/topografi, textur och tillväxthastighet (Fig. 4 & 5, Tabell 3). Exempel på formkaraktärer är hämtade från CBS Laboratory Manual Series (Crous et al. 2009), och översatta till svenska. Samtliga karaktärer bestämdes genom visuell bedömning, delvis med hjälp av mikroskop.



Figur 4. Svamparna ovan har samtliga haft tillväxttiden sju dagar. Tillväxthastighet bedömdes visuellt utifrån denna skala.



Figur 5. Exempel på olika färg, form och färgning av medium hos olika morfotyper.

### 3.5 Litteraturstudier

Litteraturstudien utfördes genom sökning och sammanställning av material från vetenskapliga artiklar via SLU:s biblioteks söktjänst PRIMO databas; böckerna *Endophytes of Forest Trees: Biology and Applications* av Pirttilä & Frank och *Microbial Endophytes* av Bacon & White, samt material från myndigheter, via sökmotorn Google.

## 4. Resultat

För respektive trädart beräknas *infektionsgrad*, den andel av 2 mm<sup>2</sup>-barkbitarna som det finns en aktiv organism i; *endofytdiversitet*, antal olika morfotyper (Tabell 2), samt *endofytfrekvens*, vilket innebär variation i fördelning av isolat/morfotyp. Skillnader mellan trädarters endofytfrekvens och –diversitet testas med lämpliga statistikmetoder.

Tabell 2. Mängden koloniserade barkbitar i procent, antal förekommande morfotyper och morfotyper som endast var representerade av ett enda isolat, för respektive art.

Art	Infektionsgrad	Diversitet	Singletons
<i>Acer</i>	97,2 %	15	5
<i>Fraxinus</i>	98,8 %	18	6

Totalt utgör de 146 isolaten 30 olika morfotyper (Tabell 3), representerade av 1 upp till 20 st isolat. Antalet morfotyper förekommande hos båda arterna är 3 st. De 3 morfotyperna står för 34 isolat. Totalt står alltså de 10 % generalister som finns för 23 % av isolaten. I samtliga fall där morfotypen förekommer hos båda trädarterna är den vanlig hos lönnen men finns i enstaka exemplar hos asken.

Tabell 3. Sammanställning av de morfologiska karaktärer som tillsammans definierade respektive morfortyp.

MT	Färg	Agarfärg	Droppar	Tjocklek	Kantform	Textur	Tillväxt
1	svart/mörkgrå	nej	många små	jämntjock	fransig	ullig	7
2	gråblå, ljus tvzon	gul	många små	platt	lobformad	torr	4
3	vit, fläckig	nej	nej	platt	fransig	sammet	7
4	gul, orange, vit	orange	stora, röda	jämntjock	tandad	ullig	2
5	vit, persikoton	nej	nej	jämntjock	cirkulär	korall	3
6	vit	nej	nej	konvex	cirkulär	fluffig	4
7	vt, svart, vit	nej	många små	jämntjock	cirkulär	ullig	4
8	svart, grå, svart tv-zon	nej	nej	jämntjock	cirkulär	sammet	1
9	ljusbeige, mörkbrun, ljus tv-zon	nej	några	jämntjock	tandad	fluffig	2
10	vit, ljusrosa	nej	nej	platt	cirkulär	slemmig	1
11	grågrön, turkos	nej	små, mörka	jämntjock	lobformad	fluffig	3
12	ljusgrå, mörkgrå/grön	svagt brun	små, mörka	konvex	cirkulär	ullig	2
13	ljusgrå, zonerad, ljus tv-zon	svagt gul	nej	jämntjock	cirkulär	ullig	3
14	vit, persikoton	nej	nej	konvex	lobformad	slemmig	1
15	svart, vit	nej	nej	jämntjock	cirkulär	korall	3
16	svartbrun, vit	brun	nej	jämntjock	cirkulär	sammet	1
17	svart, ljust överdrag, svart tv-zon	nej	nej	jämntjock	cirkulär	sammet, strålar	3
18	mörkt turkosblå	nej	nej	jämntjock	cirkulär	fluffig	3
19	röd, gul	nej	nej	platt	cirkulär	slemmig	7
20	vinröd, vit	nej	nej	platt	fransig	slemmig	6
21	beigegrå, zonerad	gul	nej	jämntjock	vågig	fluffig	6
22	gul	nej	nej	platt	fransig	slemmig	1
23	gråbrun, vit tv-zon	nej	nej	platt	fransig	sammet	6
24	kanelbrun	nej	ja	platt	tandad	slemmig	3
25	ljusgrå, beige, offwhite tv-zon	nej	nej	jämntjock	cirkulär	fluffig	6
26	ljusgrå, u.t. mörkblå, vit tv-zon	nej	få, mörka	jämntjock	vågig	fluffig	3
27	smutsvit, mintgrön (u.t. rödbrun, zonerad)	svagt brun	nej	jämntjock	tandad	fluffig	4
28	ljusgul, svart, offwhite tv-zon	nej	nej	platt	naggad	sammet	2
29	ljusgrå, mörkbrun tv-zon	nej	ja	jämntjock	naggad	ullig	2
30	svart, genomskinlig	nej	ja	konvex	vågig	slemmig	3

Skillnad i endofytfrekvens mellan de båda trädarternas morfotyper testas genom ett t-Test (Two-Sample Assuming Unequal Variances). P-värdet är 0,40453 och alltså inte signifikant, vilket innebär att det inte var någon större skillnad i fördelningen av hur många isolat olika morfotyper var representerade av hos ask respektive sykomorlön. Mönstret består i att isolaten inte är jämnt fördelade, utan ett fåtal dominanta morfotyper (3 %) står för 45 % av isolaten, medan en stor andel av morfotyperna (37 %) representeras av endast ett isolat, så kallade "singletons".

## 5. Diskussion

Resultaten från denna studie antyder att infektionsgraden och endofytfrekvensen hos de båda trädarterna ser likartad ut, men att endofytdiversiteten skiljer sig tydligt åt. Asken och sykomorlön utgör således lika goda habitat åt endofytiska svampar, men inte åt samma arter/morfotyper. Eftersom träden är relativt likåldriga och står inom trettio meters avstånd från varandra, antyder resultaten att de endofytiska svamparna generellt är värdspecifika.

### 5.1 Tidigare studier av värdspecifitet

Endast ca 10 % av de ca 1000 trädararter som finns i tempererade områden har hittills undersökts, och av dessa undersökningar är många "undersamlade", vilket betyder att såpass lite material samlats in att de inte med säkerhet kan återge en korrekt bild av den totala endofytartrikedomen (Unterseher 2011). Flertalet studier indikerar dessutom att många olika faktorer har inverkan på växters inneboende svampflora, till exempel; årstid, geografisk plats och kringvarande vegetation (Schulz & Boyle 2005, Unterseher 2011). Fukt är ofta en essentiell faktor för olika svampars förmåga att kolonisera växtvävnad, varför olika mikroklimat eller porositeten och den vattenhållande förmågan hos olika trädslags bark skulle kunna ha betydelse för den lokala svampfloran. I en review-artikel av aktuell forskning om trädlevande endofyter sammanfattar Wilson (2000) att det enligt flertalet studier finns en korrelation mellan endofytsammansättning och höjd på stammen, men inte efter vilket väderstreck på stammen som proverna tagits. Somliga endofyter är begränsade till att existera inom enskilda växtarter, medan andra är generalister, vars utbredning är mer beroende av geografisk plats och intilliggande vegetation än det specifika trädets arttillhörighet. I en

studie av diversitet och värdspezifitet hos svampendofyter i levermossor fann man att samhällena inom en växt stod i starkare korrelation till den närliggande miljön än svampfloran hos närbesläktade levermossor (Davis & Shaw 2008). Unterseher (2011) jämförde endofytsamhällena i bok (*F. sylvatica*) i norra Tyskland respektive Schweiz och fann även där en tydlig skillnad i artsammansättning för samma värd i olika miljöer.

Samtidigt antyder flera studier en stark relation mellan trädart och endofytflora. En jämförande studie mellan endofytsamhällena hos pil (*Salix fragilis*) och ek (*Quercus robur*), som båda har funnits inom samma geografiska områden länge, påvisade liten överlappning mellan de två artsamhällena, även om många av pilens endofyter var identifierade som generalister (Petrini & Fischer 1990). Båda de respektive habitaterna dominerades av ett fåtal arter. Studien jämför även resultaten med tidigare studier av klibbal (*Alnus glutinosa*) från samma plats, varav endast 2 av de 30 funna morfotyperna (ingen av de vanligaste) hos alen återfanns hos ek och sälg. I en liknande studie av tall (*Pinus sylvestris*) och bok (*Fagus sylvatica*) från samma område återfanns 53 endofytarter, varav endast 5 identifierades som icke-värdspecifika (Petrini & Fischer 1988). Trots att flera av de funna endofyterna var identifierade som generalister var det generellt liten överlappning mellan samhällena i träd inom samma miljöer. Petrini & Fischer (1988) drar slutsatsen att endofyter är värdspecifika. I en reviewartikel (Arnold 2007) konstateras att mönstret utifrån många studier verkar vara att endofytpopulationer i träd domineras av relativt få arter, som generellt är värdspecifika och/eller har hög värdpreferens. Termerna "värdpreferens" respektive "värdspezifitet" kan tillämpas för att tydliggöra skillnad mellan endofyter som tydligt föredrar en värd men kan förekomma hos flera värdar, och sådana som är verkligt artspecifika (Schulz & Boyle 2005).

I en stor studie av värdspezifitet hos endofytsamhällena hos tropiska trädslag från 2002 jämfördes svampfloran i bladen hos 12 trädarter från olika platser (Cannon & Simmons 2002). Till skillnad från studierna av de boreala trädslagen fanns ingen signifikant skillnad i endofytsamhällena hos de olika trädarterna, varken på art- eller familjenivå. Utifrån de totalt 2492 isolaten fann de inte en enda morfotyp som förekom hos endast en trädart, varför Cannon & Simmons (2002) drar slutsatsen att värdspezifiteten hos de tropiska endofyterna är liten eller obefintlig.

En anledning till de här vitt skilda resultaten kan bestå i att den ena är genomförd i tropisk skog och de andra mellan trädslag i boreala skogar. Vidare avspeglar studierna blad-

respektive bark- eller grendiversitet. Olika miljöer, liksom olika delar av ett träd, skulle kunna föranleda annorlunda diversitetsmönster till följd av olika life history-strategier. I en studie av endofyter hos närbesläktade trädarter av släktet *Pinus* på tre ekologiskt olika platser fann Arnold (2007) att skillnad i både diversitet och dominerande endofyter hade en samvariation med både art och miljö. När man studerade endofyterna utifrån genotyp, förekom 53 av de 56 funna enbart hos en värdart. Men när endofyterna istället var kategoriserade utifrån morfotyp/artnivå, sjönk värdspezifiteten till endast hälften. Arnold (2007) föreslår således att den biologiska nivå som definierar endofyters diversitet kanske inte bör förstås på artnivå, utan snarare utifrån populations- eller genotypnivå. Lamit et al (2014) sammanfattar i studier av endofytsamhällen i förhållande till genotyp hos värdväxt, att även genetisk variation hos värdväxten kan förklara skillnad i svampflora mellan individer inom samma trädart.

Den mångfald av slutsatser som olika studier påvisar visar hur kontextberoende artsammansättningen av endofyter är, och hur komplext det är att uppskatta dess samband. Resultaten i den här studien av periderm hos ask och sykomorlönna går i linje med resultat från tidigare jämförelser av tempererade trädarter, och indikerar att majoriteten av endofyterna är värdspecifika och/eller har hög värdpreferens, med liten överlappning mellan trädslagen (Petrini & Fischer 1988, 1990, Arnold 2007). Vidare var ett fåtal morfotyper dominerande, medan det större antalet endast fanns representerade som enskilda isolat. Träden utgjorde ett relativt jämn gammalt bestånd som stått på platsen länge. Om den större andelen av endofyterna varit generalister som överförs horisontellt, borde det funnits en större likhet mellan diversiteten i de båda trädslagens periderm. Alnarpsparken är en plats med mycket hög diversitet av vedartade växter, inte minst av exotiska trädslag. Wilson (2000) resonerar i artikeln *Ecology of Woody Plant Endophytes* att om endofyter med hög värdpreferens flyttas utom området för sin värds naturliga spridning, kommer endofyten att sakna nytt substrat att regenerera på, och växtvävnaden successivt tas över av mer opportunistiska arter. Enligt den teorin skulle den höga diversiteten av träd utanför sina naturliga habitat kunna innebära en trivialisering av potentiella endofytsamhällen hos träd i Alnarpsparken. Det skulle ju dock ha kommit till uttryck i att askarna och sykomorlönarna hyst mer likartad svampflora, vilket inte var fallet. Det är möjligt att somliga endofytsläkten samevolverat med specifika växtfamiljer och är sammanlänkade genetiskt snarare än miljömässigt, medan andra utvecklat opportunism.

## 5.2 Ekologiska konsekvenser

Ädellövskogar är viktiga för nära hälften av de rödlistade skogsarterna, samtidigt som biotopen ädellövskog endast täcker 1 % av skogsarealen i Sverige (Gärdenfors 2010). Resultaten av den här studien antyder att sykomorlönne inte har möjlighet att ersätta ask som värdräd för dess endofytsamhällen. Dock indikerar resultaten att sykomorlönne utgör habitat åt likväl så många olika endofyter som asken. De svarar i sig för biologisk mångfald. Vilka deras egenskaper är, hur de skiljer sig åt och vad de har för funktioner i ekosystemen som helhet är ej belagt. Huruvida de är nedbrytare, antagonister mot patogener eller konkurrenter mot arter som man vill främja, är avgörande för hur naturvård respektive skogsbruk bör förhålla sig till dem. Utifrån de resultat som den här studien påvisat och i enighet med tidigare litteratur kan man konstatera att det är svårt att ekologiskt ersätta ett träd med ett annat. Svampfloran hos ett träd utgör endast en del av den totala mångfalden av arter knuten till det. I fråga om sykomorlönnes vara eller icke-vara i våra ädellövbestånd, och då speciellt i hänseende till dess möjlighet att bära askens mångfald, är det många andra artgrupper som måste tas i beaktning. Även om resultaten i den här studien indikerade att sykomorlönne förmodligen inte skulle kunna härbärga majoriteten av askens endofytflora, kan man konstatera att det enligt JNCC:s analyser inte helt går att avfärda trädet som enbart negativt för biologisk mångfald. För att dra slutsatser om hur vi ska förhålla oss till sykomorlönne i naturvårdssammanhang såväl som skogsbruk vore det intressant att se en större analys av sammantagen information för svenska förhållanden, liknande den i Storbritannien.

## 5.3 Metodbegränsningar

Vid studier av endofyter förekommer flera olika sorters medium, till exempel potatis- eller maltagar, med eller utan antibiotika (Arnold 2007). Utöver val av medium kan även tid mellan insamling och sterilisering, kultiveringsförhållanden samt storlek på proven, varvid negativ korrelation mellan storlek och artdiversitet har påvisats (Arnold 2007), ha inverkan på resultat. För att kunna jämföra studier jämbördigt skulle fältet främjas av mer standardisering av hela förloppet för endofytisolering. Medium och temperatur för tillväxt har förmodligen haft inverkan på vilka svampar som fått tillväxa även i denna studie, varav mer fortväxande endofyter riskerar att vara överrepresenterade i urvalet av isolat. Detta kan ge utfall i skildringen av diversiteten hos respektive trädslag, men påverkar förhoppningsvis inte



resultatet förhållandet mellan ask och lönn (eftersom samma bias drabbar dem). Det vore intressant att se om det finns någon korrelation mellan vilka svampar som tillväxer kraftigast i agarmediumet och vilka som är de mest konkurrenskraftiga antagonisterna inuti träden.

## 5.4 Framtida forskning

Utifrån den förståelse jag fått för komplexiteten kring endofyters värdpreferens, skulle variation av studien med fördel kunna genomföras genom att samla in material från två värdarter som återkommer i direkt närhet till varandra, men i ekologiskt åtskilda miljöer, för att sedan genomföra någon typ av multivariat analys, till exempel PCA (principal component analysis). Det skulle även vara intressant att undersöka svampfloran hos vedartade växter i närheten av ask som också tillhör samma familj, till exempel syrén (*Syringa vulgaris*) och liguster (*Ligustrum vulgare*), eftersom fylogenetisk närhet verkar kunna vara en faktor avgör trädtilhörighet. För fördjupad kunskap om de specifika endofyterna kopplade till ask och sykomorlön skulle man kunna använda sig av DNA-sekvensering och molekylära metoder för att få reda på taxonomi och vilka ämnen de använder sig av.

Det verkar vidare som om mycket forskning fokuserat på endofyternas roll i växt-insektrelationer, men förmodligen finns det många fler interaktioner att undersöka. För att komma vidare med förståelse för endofyters värdinteraktioner, alfa- respektive betadiversitet behövs ett teoretiskt ramverk anpassat för ekologi på mikronivå (Unterseher 2011). Det vore intressant att se mer forskning om förhållanden mellan endofytflora och epidemiska svampsjukdomar hos träd, som ju är konkurrenter om samma habitat.

## 6. Slutsats

Studiens resultat antyder att den endofytiska svampfloran i barken hos sykomorlön (*A. pseudoplatanus*) och ask (*F. excelsior*) inom samma miljö inte är likartad. Endofyternas preferens av substrat verkar således vara värdspecifikt snarare än miljöbetingat. Resultaten går i linje med tidigare studier av svampendofyter hos boreala trädslag, men en mer komplett insamling av endofyter från hela säsongen och DNA-sekvensering för att säkerställa deras taxonomiska särskiljning behövs för att bekräfta resultatet.

## 7. Tillkännagivanden

Tack till min handledare Johanna Witzell, för att du gav mig tillträde till en värld av förundransvärda och vackra organismer som få människor har skådat.

Tack till Elin, Jens och alla andra som varit till stöd under den här våren. Och tack till träden, för ständig inspiration.

## 8. Referenser

Arnold, A. E. (2007). Understanding the diversity of foliar endophytic fungi: progress, challenges and frontiers. *Fungal Biology Reviews*, vol. 21, ss. 51-66.

Barklund, P. (2006). Okänd svamp bakom askskottsjukan. Värsta farsoten som drabbat en enskild trädart. *Skogseko*, vol. 3, ss. 10-11.

Binggeli, P. (1992). *Patterns of invasion of sycamore (Acer pseudoplatanus L.) in relation to species and ecosystem attributes*. Diss. University of Ulster, Nordirland

Cannon, F. P., Simmons M. C. (2002). Diversity and host preference of leaf endophytic fungi in the Iwokrama Forest Reserve, Guyana. *Mycologia*, vol. 94, ss. 210-220

Crous, W. P., Samson, A. R., Verkley, G.J.M. & Groenewald, J.Z. (2009). *Fungal Biodiversity - CBS Laboratory Manual Series*, Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures

Davis, C. & Shaw, J. A. (2008). Biogeographic and phylogenetic patterns in diversity of liverwort-associated endophytes. *American Journal of Botany*, vol. 08, ss. 914-24

Engquist, M. (2009). *Rekommendationer för trädplantering i Skånes landskap*. Malmö: Länsstyrelsen i Skåne

Gärdenfors, U. (2010) *Rödlistade arter i Sverige 2010 – The 2010 Red List of Swedish Species*. Uppsala: ArtDatabanken, SLU

Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I. & Lorito, M. (2004). Trichoderma species - opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, vol. 2, ss. 43

Hylander, N. (1971). Prima loca plantarum vascularium Sueciae. Första litteraturuppgift för Sveriges vildväxande kärlväxter jämte uppgifter om första svenska fynd. *Svensk Botanisk Tidskrift*, vol. 64, ss. 196

Johansson, S., Stenlid, J., Barklund, P. & Vasaitis R. (2009). Svampen bakom askskottsjukan – biologi och genetik. *FAKTA SKOG Rön från Sveriges Lantbruksuniversitet*, nr. 3

- Jones, E.W. (1945). Biological Flora of the British Isles: *Acer pseudoplatanus* L. *Journal of Ecology*, vol. 32, ss. 220-237
- Kowalski, T. & Kehr, R.D. (1992). Endophytic fungal colonization of branch bases in several forest tree species. *Sydowia* vol. 44, ss. 137-168
- Kowalski, T. (2006). *Chalara fraxinea* sp. nov. associated with dieback of ash (*Fraxinus excelsior*) in Poland. *Forest Pathology*, vol. 36, ss. 264–270
- Lacap, D.C., Hyde, K.D. and Liew, E.C.Y. (2003). An evaluation of the fungal ‘morphotype’ concept based on ribosomal DNA sequences. *Fungal Diversity*, vol. 12, ss. 53-66
- Lamit, L., Lau, M., Sthultz, C., Wooley, S., Whitham, T. & Gehring, C. (2014). Tree genotype and genetically based growth traits structure twig endophyte communities, *American Journal of Botany*, vol.101, ss. 467
- Mitchell, R.J., Bailey, S., Beaton, J.K., Bellamy, P.E., Brooker, R.W., Broome, A., Chetcuti, J., Eaton, S., Ellis, C.J., Farren, J., Gimona, A., Goldberg, E., Hall, J., Harmer, R., Hester, A.J., Hewison, R.L., Hodgetts, N.G., Hooper, R.J., Howe, L., Iason, G.R., Kerr, G., Littlewood, N.A., Morgan, V., Newey, S., Potts, J.M., Pozsgai, G., Ray, D., Sim, D.A., Stockan, J.A., Taylor, A.F.S. & Woodward, S. (2014) *The potential ecological impact of ash dieback in the UK*, Peterborough: JNCC (JNCC Report 483, ss. 132 – 179)
- Petrini, O. (1986). Taxonomy of endophytic fungi of aerial plant tissues. I: Fokkema, N.J. & Van den Heuvel, J. (red.) *Microbiology of the Phyllosphere*. Cambridge: Cambridge University Press, ss. 175-187
- Petrini, O. & Fisher, P.J. (1988). A comparative study of fungal endophytes in xylem and whole stem of *Pinus sylvestris* and *Fagus sylvatica*. *Transactions of the British Mycological Society*, vol. 91, ss. 233-238
- Petrini, O. & Fisher, P.J. (1990). Occurrence of fungal endophytes in twigs of *Salix fragilis* and *Quercus robur*. *Mycological Research*, vol. 94, ss. 1077-1080
- Raven, H.P., Evert, F.R. & Eichhorn, E.S. (1992). *Biology of Plants*. 5. uppl. New York: Worth Publishers
- Romeralom, C., Santamaría, O., Pando, V. & Diez, J.J. (2015). Fungal endophytes reduce necrosis length produced by *Gremmeniella abietina* in *Pinus halepensis* seedlings. *Biological Control*, vol. 80, ss. 30–39
- Saikkonen, K. (1998). Fungal Endophytes: a continuum of interactions with host plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, vol. 29, ss. 319-343
- Sandström, J., Bjelke, U., Carlberg, T. & Sundberg, S. (2015) Tillstånd och trender för arter och deras livsmiljöer – rödlistade arter i Sverige 2015. ArtDatabanken Rapporterar 17. ArtDatabanken, SLU. Uppsala
- Schulz, B. & Boyle, C. (2005). The endophytic continuum. *Mycological Research*, vol. 109, ss. 661-686

Sjöstedt, J. (2012) *A literature study and survey of sycamore maple (Acer pseudoplatanus L.) in southern Sweden*. Masteruppsats. Sveriges Lantbruksuniversitet, Alnarp

Skogsstyrelsen (2009). *Regler om användning av främmande trädslag, Meddelande 7*. Jönköping: Skogsstyrelsens förlag

Skogsstyrelsen (2013) *Ask och askskottssjukan i Sverige, Meddelande 4*. Jönköping: Skogsstyrelsens förlag

Suryanarayanan, T.S. (2013). Endophyte research: going beyond isolation and metabolite documentation. *Fungal Ecology*, vol. 6, ss. 561–568

Thomas, P. A. (2016). Biological Flora of the British Isles: *Fraxinus excelsior*. *Journal of Ecology*. doi: 10.1111/1365-2745.12566

Unterseher, M. (2011). Diversity of fungal endophytes in temperate forest trees. I: Pirttilä, A. M. & Frank, C. (red.) *Endophytes of Forest Trees: Biology and Applications*, Springer Science, ss. 31-46

Weidema, I. & Buchwald, E. (2010). *Invasive Alien Species Fact Sheet – Acer pseudoplatanus*. Online Database of the European Network on Invasive Alien Species – NOBANIS [www.nobanis.org](http://www.nobanis.org) 2016-03-20

Wilson, D.E. (1995). Endophyte - the evolution of a term, and clarification of it's use and definition. *Oikos* vol. 73, ss. 274-276